ÜBER DEN ZUSAMMENHANG ZWISCHEN SENSIBILISIERUNG UND FLUORESZENZ

AUS DEM KGL. PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT
(VORSTAND PROF. DR. v. TAPPEINER)

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
IN DER INNEREN MEDIZIN, CHIRURGIE,
GEBURTSHILFE UND GYNÄKOLOGIE

VERFASST UND
EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN
VORGELEGT VON

JAN PIÓRO

MÜNCHEN, IM MAI 1911
BAYERISCHE DRUCKEREI & VERLAGSANSTALT, G. M. B. H.

ÜBER DEN ZUSAMMENHANG ZWISCHEN SENSIBILISIERUNG UND FLUORESZENZ

AUS DEM KGL. PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT
(VORSTAND PROF. DR. v. TAPPEINER)

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
IN DER INNEREN MEDIZIN, CHIRURGIE,
GEBURTSHILFE UND GYNÄKOLOGIE

VERFASST UND
EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN
VORGELEGT VON

JAN PIÓRO

AGAD.
BIBL.

MÜNCHEN, IM MAI 1911
BAYERISCHE DRUCKEREI & VERLAGSANSTALT, G. M. B. H.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Prof. Dr. v. Tappeiner.
Dekan: Geheimrat Prof. Dr. v. Angerer.

Kochanemu Stryjowi Szymonowi.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545819_0039

Über den Zusammenhang zwischen Sensibilisierung und Fluoreszenz.

Die Frage, ob die Sensibilisierung mit fluoreszierenden Stoffen eine Funktion ihrer Fluoreszenz ist, wurde schon mehrmals erörtert. v. Tappeiner hat sie im positiven Sinne beantwortet und zwar auf Grund der Erfahrung, daß alle bis jetzt bekannten wirksamen Körper (53) fluoreszieren und kein einziger von den 32 untersuchten, den wirksamen Stoffen chemisch sehr nahe verwandten Körpern, denen aber diese Eigenschaft fehlt, sich als wirksam erwiesen hat.

Allerdings entspricht die Helligkeit der Fluoreszenz nicht der Stärke der Sensibilisierung. So nimmt z. B. in der Reihe der Fluoresceine die sensibilisierende Kraft zu von Fluorescein zum Eosin, zum Erythrosin, zu Rosebengale, während die Fluoreszenz dieser Stoffe in der gegebenen Reihenfolge stark abnimmt.

Die von Dreyer und Halberstädter angeführten Ausnahmen von dieser Regel haben sich als nur scheinbar erwiesen, indem die von ihren als nicht fluoreszierend angeführten Körper bei genauer Untersuchung eine Fluoreszenz zeigten.

Durch diese Tatsache wird der kausale Zusammenhang zwischen Fluoreszenz und Sensibilisierung sehr wahrscheinlich gemacht, aber nicht strenge bewiesen.

Gelänge es, fluoreszierende Stoffe durch irgend welche Maßnahme ihrer Eigenschaft zu fluoreszieren zu entkleiden oder nicht fluoreszierende Stoffe zur Fluoreszenz zu bringen, so wäre die Möglichkeit eines exakten Beweises für einen Zusammenhang zwischen Fluoreszenz und Wirkung gegeben.

Nun ist von Wiedemann und Schmidt entdeckt worden, daß auch die Körper, die in wässeriger Lösung keine Fluoreszenz zeigen, in „festen Lösungen“, d. h. in Gelatine, Zucker, Eiweiß, Benzoesäure etc. von bestimmtem Wassergehalt diese Eigenschaft in hohem Grade erhalten.

Fluoreszenz und Phosphoreszenz sind nach W. und S. identische Erscheinungen. Sie beruhen darauf, daß in der Substanz durch das absorbierte Licht Eigenschwingungen der Moleküle hervorgerufen werden, von diesen werden Aetherwellen erzeugt, die als Fluoreszenz- resp. Phosphoreszenzlicht von dem Körper ausstrahlen.

Es muß also, so nehmen W. und S. an, jeder stark absorbierende Körper fluoreszieren. Bei vielen Körpern werden aber durch die intra- und intermolekulären Kräfte diese Schwingungen während der Belichtung so stark gedämpft und nach Unterbrechung der Belichtung in so kurzer Zeit aufgehoben, daß wir nicht imstande sind, die von ihnen erzeugten Aetherwellen wahrzunehmen. Gelingt es aber durch geeignete Trennung, den Molekülen freie Schwingungen zu ermöglichen, so werden diese so intensiv, daß die von ihnen erzeugte Fluoreszenz schon mit bloßem Auge zu sehen und die Phosphoreszenz, besonders mit den zu diesem Zweck konstruierten Apparaten, deutlich nachzuweisen ist. Diese Trennung der Moleküle wird eben durch „feste Lösung“ zustande gebracht.

Als ein solcher Körper, der nach W. und S. durch besonders starke Fluoreszenz in Gelatine, Zucker etc. ausgezeichnet ist, hat sich Auramin erwiesen. Seine wässerige Lösung ist goldgelb gefärbt und zeigt gar keine Fluoreszenz, in Gelatine bei 30% Wassergehalt erscheint eine prachtvolle grüne Fluoreszenz, die bei weiterer Wasserabnahme sehr bald schon mit bloßem Auge im Sonnenlicht ohne Schwierigkeit zu sehen ist.

Würde die Sensibilisierung eine Funktion der Fluoreszenz sein, so müßte sich die wässerige Auraminlösung als unwirksam, die Gelatinelösung als wirksam erweisen. Der Beweis wäre schlagend, denn die chemische Zusammensetzung und die übrigen Eigenschaften des Auramins werden durch Gelatine nicht verändert.

Es handelt sich nun darum, eine Reaktion zu finden, die in Gelatine mit 30% Wassergehalt vor sich gehen würde und die durch die sensibilisierend wirksamen Stoffe genügend beeinflußbar wäre.

Den ersten Versuch in dieser Richtung hat im Jahre 1905 Dr. Seckel im hiesigen Institut auf Anregung Prof. v. Tappeiners

gemacht und in seiner Arbeit „über die Abspaltung von Jod aus Jodkaliumgelatine im Lichte“ darüber berichtet.

Der Versuch ist mißlungen. Schon in Gelatine mit 38% Wassergehalt wurde keine Jodabspaltung mehr beobachtet, somit bei einem Wassergehalt, bei dem die Fluoreszenz des Auramins in Gelatine noch nicht in Erscheinung tritt; denn diese beginnt erst bei 30% Wassergehalt. Außerdem wird J. durch Gelatine gebunden und zwar ist diese Bindung von der Temperatur, Zeit und Konzentration der Gelatine abhängig, von einer quantitativen Verfolgung der Versuche kann also nicht die Rede sein. Schließlich ist auch nicht möglich, durch Steigern der Belichtungsdauer die Menge des abgespaltenen Jods zu vermehren, weil das freie J. sofort durch Gelatine gebunden wird. Es waren deshalb die Seckelschen Versuche neu aufzunehmen und in erster Linie waren Stoffe zu suchen, die in Gelatin mit 30% Wasser sich noch oxydieren und außerdem lichtempfindlich und sensibilisierbar sind.

Kalium arsenicosum besitzt, wie Heffter bereits fand, die letzten beiden Eigenschaften in genügendem Grade. Vorversuche von mir ergaben, daß es sich auch bei nur 30% Wasser in einer Gelatine noch zu Kalium arsenicicum oxydiert.

Schließlich ist durch Titration mit J. die Menge der oxydierten Substanz, also die Stärke der Wirkung leicht quantitativ zu bestimmen. Somit schien der Körper zur Untersuchung als geeignet.

a) Bereitung der flüssigen Gelatine.

Die Versuche wurden folgendermaßen angestellt. Zuerst bereitete ich mir die nötigen Lösungen. In einem gut verschließbaren Glasgefäß wurden 150 gr käufliche Gelatine (Marke Golddruck), die nach Seckel keine eigene Fluoreszenz besitzt, mit 240 ccm heißen destillierten Wassers versetzt und sofort in einen Brutschrank von 98° C gebracht. Unter Umrühren mit einem Glasstab löste sich die Gelatine in ungefähr 2 Stunden zu einer ganz gleichmäßigen, dickflüssigen Masse. Da die käufliche Gelatine im Duchschnitt 20% Wasser enthält (Seckel), so enthielt die Lösung 45% Gelatine. Die Lösung gleich zu verwenden hat sich als unzweckmäßig herausgestellt, weil sie zu schnell erstarrt, so daß man mit dem Einbringen der nötigen Ingredienzien und gleichmäßigen Durchmischen große Schwierigkeiten hat.

Läßt man dagegen die Lösung bei 98° C etwa 24 Stunden stehen, so wird dadurch unter Gleichbleiben sonstiger Eigenschaften, wie Durchsichtigkeit etc. die Erstarrungsgeschwindigkeit auf etwa 15 Minuten herabgesetzt, was das Gießen der Platten bedeutend erleichtert.

b) Bereitung der zuzusetzenden Lösungen.

Kalium arsenicosum wurde von Kahlbaum bezogen in destilliertem heißen Wasser aufgelöst und filtriert. Es wurde 10% Lösung verwendet und es war zur Oxydation von 1.5 ccm der Lösung — 21.1 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung nötig.

Weiter stellte ich mir $\frac{n}{100}$ Eosinlösung her.

Die gleich konzentrierte Lösung von Auramin (Kahlbaum) herzustellen gelang mir nicht. Es ließ sich zwar so viel Substanz in heißem Wasser auflösen, fiel aber nach dem Erkalten als feinpulveriger Niederschlag aus. Ich mußte mich deshalb mit $\frac{n}{400}$ Lösung begnügen und eine stärkere Verdünnung durch größere Menge der Lösung kompensieren. Da das Molekulargewicht des Auramins — $NH = C = (C_3 H_4 NH_2)_2$ — 273 beträgt, so wurden 0.06 gr in 100 gr heißen Wassers aufgelöst. Diese Lösung hat sich als beliebig lange haltbar erwiesen.

Alle Lösungen wurden immer, weil sie lichtempfindlich sind, im Dunkeln aufbewahrt.

c) Gießen der Platten.

Die gelöste Gelatine wurde in Petrischalen gegossen. Als besonders geeignet haben sich solche von 10 cm Durchmesser und 1.5 cm Höhe erwiesen. Durch die bedeutende Höhe war das Durchmischen nach Einbringen der Lösungen wesentlich erleichtert.

Es wurden bei jedem Versuch drei Serien Platten gegossen. Jede Serie bestand aus drei Platten, die folgende Zusammensetzung hatten.

I. 20 gr 45% Gel. — 1.5 ccm $\frac{n}{400}$ Auraminlös. — 1.5 ccm 10% Kal. arsenicos.

II. 20 gr 45% Gel. — 0.5 ccm $\frac{n}{100}$ Eosinlös. — 1.5 ccm 10% Kal. arsenicos.

III. 20 gr 45% Gel. — 1.5 ccm 10% Kal. arsenicos.

Die Eosinplatte sollte, als fluoreszierend, die gleiche Wirkung wie die Auraminplatte entfalten; die farbstoffreie Platte diente als Kontrolle. Die Kontrolle hat sich als absolut notwendig herausgestellt, weil schon durch die Einwirkung des Lichtes allein die Oxydation, wenn auch in bescheidenen Grenzen vor sich ging, so daß nur nach Abzug dieser reinen Lichtwirkung, die durch Auramin resp. Eosin hervorgerufene Beschleunigung der Oxydation berechnet werden konnte.

Das Gießen selbst geschah folgender Weise. Die Petrischale wurde gewogen, dann heiß gemacht und auf der Wage 20 gr heißer Gelatinelösung hineingebracht, dann rasch die übrigen Ingredienzien hineinpipetiert, mit einem Glasstab gut durchgemischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 15 Minuten war die Platte erstarrt. Sie war so durchsichtig, daß man, durch sie durchblickend, gewöhnliche Schrift ohne Schwierigkeiten lesen konnte. Dann wurde die Platte noch einmal gewogen, der Glasstab, mit dem das Mischen geschah, im Dunkeln aufgehoben und die an ihm haftende Substanz für sich untersucht.

Das Wiegen war nötig, um berechnen zu können, wieviel Gramm muß die Platte verlieren, wenn sie nur 30% Wasser enthalten soll; z. B. Gewicht der Petrischale 40.9 gr, Gewicht der Platte 62.9 — Differenz 22.0.

20 gr 45% Gelatine bis zu 70% Konzentration müssen 7.2 gr Wasser verlieren, dazu kommt noch z. B. 1.5 gr Kalium arsenicosum und 0.5 gr Eosinlösung — also die Platte muß bis zur gehörigen Konzentration 9.2 gr verlieren.

Das wurde durch Trocknen im Brutschrank bei 65° C in etwa 7 Tagen erreicht. Die spätere Abnahme während der Belichtung war ganz unbedeutend und betrug nur einige Dezigramme. Wie sich diese Verhältnisse in meinen Versuchen gestaltet haben, zeigt die nebenstehende Tabelle.

Nach dem Trocknen zeigten Eosin- und Auraminplatten prachtvolle Fluoreszenz (Eosin — gelblichgrüne, Auramin intensiv grüne).

Es waren noch Platten nötig, in denen an die Stelle der Gelatine das Wasser trat, um die Wirkung des Auramins im Wasser und die Beeinflussung der Wirkung durch Gelatine zu erforschen. Die Mengenverhältnisse waren wie in Gelatineplatten

Gewicht der Schale in Gramm	Gewicht der Schale + Gelatine + Zusatz in Gramm		
	sofort nach dem Gießen	nach genügender Trocknung bei Beginn der Belichtung	nach vollendeter Belichtung
Platte	Serie I		
I 36,50	58,60	47,50	47,10
II 51,89	72,73	62,40	62,20
III 38,75	59,10	51,20	51,00
	Serie II		
I 30,96	53,20	41,20	39,80
II 33,73	54,65	44,50	44,10
III 33,59	54,00	43,80	43,20
	Serie III		
I 50,96	73,10	62,50	62,00
II 44,30	66,05	57,40	56,90
III 31,01	52,00	41,90	41,70

nur den 20 gr Gelatine entsprachen 20 gr destillierten Wassers. Es wurden 2 Serien zu je 3 Platten derartig angefertigt.

d) Belichtung.

Eine Serie von Gelatineplatten, sowie eine Serie Wasserplatten wurden im Dunkeln (in der Schublade des Untersuchungstisches) aufgehoben, die übrigen auf einer mit weißem Filterpapier bedeckten Platte der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt.

Das in den Wasserplatten verdunstete Wasser wurde stets neu ersetzt. Die Belichtung geschah im ungeheizten Raume (Vermeidung des Temperatureinflusses) an einem Fenster, das gegen Süden liegt.

Die Belichtung dauerte 4 Wochen. Es hat sich gezeigt, daß die Menge der oxydierten Substanz der Belichtungsdauer ungefähr proportional war und daß nach 4 Wochen, an den Wasserplatten zuerst bestimmt, die Wirkung genügend weit fortgeschritten war, es wäre sonst möglich, durch Fortsetzung der Belichtung die Menge der oxydierten Substanz zu steigern.

Die Lichtintensität war verschieden, im allgemeinen herrschte aber ein heiteres Wetter und an einigen Tagen ist Schnee gefallen, der durch die Wirkung des von ihm reflektierten

Lichtes die Oxydation fördern mußte. Die mittlere Länge des Tages betrug etwa 9 Stunden, so daß die Platten insgesamt 252 Stunden belichtet waren. Die Lichtintensität war dem Winter entsprechend sehr mäßig und konnte der Intensität des diffusen Lichtes des Sommers nicht an die Seite gestellt werden, was sehr schön durch Versuche mit Paramäcien zu zeigen war. Im Sommer wurden die Paramäcien bei gleicher Versuchsanordnung vom $\frac{n}{20{,}000}$ dichlorantracendisulfonsauren Natrium in 20 Minuten, im Winter erst nach 45 Minuten getötet.

Chemische Untersuchung.

e) Analyse der Gelatineplatten auf gebildete Arsensäure.

Nach vierwöchentlicher Belichtung wurden die Platten untersucht, wobei sich folgende Methode als sehr gut bewährt gezeigt hat.

Die zu untersuchende Platte wurde von der Petrischale, die meistens durch Zusammenziehung der Gelatine in kleine Stücke zersprengt war, abgelöst und in eine Porzellanschale mit 200 ccm heißen destillierten Wassers gebracht und im Brutschrank bei 98° C unter Umrühren aufgelöst. Die Scherben der Petrischale wurden mit 100 ccm Wasser gut ausgewaschen. Die Lösung wird dann in ein etwa 5 Liter haltendes Emailgefäß gebracht und Glasstab, verwendete Schale etc. mit 100 ccm destillierten Wassers nachgewaschen. Dann wird die Lösung mit 5 ccm verdünnter Salzsäure versetzt und unter energischem Umrühren mit einem Glasstab 3 L. 96% Alkohols zugesetzt. Die Gelatine fällt hierbei nicht aus, da die zugesetzte Säure dies verhindert, ebenso bleibt die arsenige Säure resp. Arsensäure gelöst.

Jetzt wird langsam, tropfenweise, unter beständigem Umrühren mit einem Glasstab unter Prüfung der Reaktion 15%-ige Natronlauge zugesetzt, aber nur solange, bis die saure Reaktion stark abgestumpft ist, ohne aber in die alkalische überzugehen. Zuerst entsteht an der Stelle, wohin ein Natronlaugetropfen gefallen ist, eine milchige Trübung, die rasch beim Umrühren wieder verschwindet. Allmählich trübt sich die ganze Flüssigkeit, aber an Stelle des gefallenen NaOH Tropfens ist noch deutlich eine stärkere Trübung zu erkennen, schließlich kann man auch diese

Erscheinung nicht mehr beobachten, die Flüssigkeit ist weiß, gleichmäßig milchig getrübt und die Natronlauge bringt scheinbar keine Veränderung mehr hervor. Weiter wird nun zu der eben noch sauer reagierenden Flüssigkeit nur stark verdünnte Natronlauge zugesetzt und die Reaktion genauest mit hochempfindlichem Lackmußpapier geprüft. Sobald die Reaktion eben neutral ist, erscheinen zuerst kleinste, weiße Flöckchen, die sich rasch zusammenballen. Die Lösung sieht wie geronnene Milch aus; in einer klaren durchsichtigen Flüssigkeit schwimmen zahlreiche weiße Flocken, die sich rasch zu Boden senken. Die Fällung ist vollendet.

Die Lösung wird durch ein Faltenfilter filtriert und zwar soll, wenn die Fällung gut gelungen ist, das Filtrat beim ersten Durchlaufen vollständig klar sein. In etwa 20 Minuten soll die Filtration der ca. 3½ Liter Flüssigkeit zu Ende sein. Der Filterrückstand wurde sodann gespült und ausgepreßt.

Diese ganze Prozedur muß peinlichst eingehalten werden, um genaue Resultate zu erhalten und die Gelatine quantitativ zu fällen. Letzteres erwies sich als durchaus nötig für die quantitative Bestimmung der arsenigen Säure resp. der gebildeten Arsensäure.

Die nicht oxydiert gebliebene Menge arseniger Säure wird durch Titration mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung bestimmt.

Der Versuch, den Alkohol abzudampfen, dann mit Stärkezusatz als Indikator zu titrieren, mißlang, da beim Abdampfen Oxydation eintrat. Deshalb wurde gleich in die alkoholische Lösung titriert. Die große Flüssigkeitsmenge störte die Feinheit der Methode nicht. Ein Tropfen freien Jods ist am Umschlage des Farbentones in Gelb zu erkennen.

In Lösungen ohne fluoreszierende Farbstoffe ist somit die Analyse leicht und vollständig genau. Etwas schwieriger gestaltet sie sich bei den Farbstoffen. Eosin mußte vor der Titration entfernt werden, was leicht gelang durch Ansäuern und Schütteln mit sehr geringer Menge von feingepulverter Tierkohle.

Auf die Entfernung von Auramin mußte verzichtet werden, denn es fand sich kein Weg, dies ohne Verlust von arseniger Säure zu erreichen. Bei einiger Uebung gelingt es aber auch ohne Entfernung des Farbstoffes genaue Resultate zu erzielen.

Denn die Färbung durch Auramin ist rein gelb und geht durch geringste Spuren freien Jods in Orange über. Es ist jedoch ratsam, auch bei großer Uebung eine mit der zu titrierenden Lösung gleich gefärbte alkoholische Lösung von Auramin zum Vergleich aufzustellen.

So gelingt es selbst in den Versuchen mit Auramin die arsenige Säure bis auf 1% Fehler zu bestimmen, bei Zusatz von 0.9 mg Auramin zu 3½ L. Lösung.

Die Wasserplatte wurde genau gleich behandelt, nur ist eine so große Menge von Alkohol nicht nötig.

Versuchsergebnisse.

a) Analyse der Gelatineversuche.

Zuerst wurde die Menge arseniger Säure bestimmt, die an den Glasstäben, welche zur Bereitung der Platten benutzt waren, hängen blieb. Das Ergebnis zeigt die untenstehende Tabelle in ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung ausgedrückt:

		Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine	belichtet (Serie I)	1,7	1,4	2,2
	belichtet (Serie II)	1,9	2,0	4,3
	unbelichtet (Serie III)	2,0	2,3	2,4

Da jede Schale mit dem zugehörenden Glasstabe 1.5 ccm 10% Kalium arsenicosum Lösung enthielt = 21.1 ccm $\frac{n}{10}$ Lösung, so ist nach Abzug des am Glasstab haftenden As der Gehalt der Platten an Kalium arsenicosum folgender:

		Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine	belichtet (Serie I)	19,4	19,7	18,9
	belichtet (Serie II)	19,2	19,1	16,4
	unbelichtet (Serie III)	19,1	18,8	18,7
Ohne Gelatine . . .	belichtet	21,1	21,1	21,1
	unbelichtet	21,1	21,1	21,1

Die Analyse der Platten auf arsenige Säure ergab:

		Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine	belichtet (Serie I)	15,1	18,3	18,2
	belichtet (Serie II)	15,8	17,9	16,3
	unbelichtet (Serie III)	18,8	18,6	18,4
Ohne Gelatine . . .	belichtet	15,0	13,3	15,0
	unbelichtet	20,9	21,0	21,1

Es wurden also oxydiert:

		Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine	belichtet (Serie I)	4,3	1,4	0,7
	belichtet (Serie II)	3,4	1,2	0,5
	unbelichtet (Serie III)	0,3	0,2	0,3
Ohne Gelatine . . .	belichtet	6,1	7,8	6,1
	unbelichtet	0,2	0,1	0,0

In Prozenten ausgedrückt ergeben die Versuche somit folgendes. Es sind von der arsenigen Säure oxydiert:

		Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine	belichtet (Serie I)	22,2	7,0	3,7
	belichtet (Serie II)	17,7	6,2	3,0
	unbelichtet (Serie III)	1,5	1,0	1,6
Ohne Gelatine . . .	belichtet	29,3	37,4	28,9
	unbelichtet	0,9	0,4	0.

Der Belichtungseffekt resp. die Oxydationsgröße, welche nach Abzug der bereits im Dunkeln stattgehabten Oxydation[1]) verbleibt, ist somit:

	Auramin	Eosin	o. Zusatz
Mit Gelatine (S. I) . .	20,7	6,0	2,1
Mit Gelatine (S. II) .	16,2	5,2	1,4
Ohne Gelatine . . .	28,4	37,0	28,0

[1]) Dieselbe ist allerdings so gering, daß sie sich noch innerhalb der Grenzen der in Methode liegenden Fehler bewegt.

Die Tabelle zeigt, daß, wie schon bekannt, in wässeriger Lösung auch ohne Sensibilisator im Lichte eine Oxydation der arsenigen Säure statt hat und zwar beträgt sie 28%. Bei Gegenwart eines Sensibilisators (Eosin) steigt sie um weitere 9%, somit auf 37%, der Zusatz des Auramins war erfolglos, auch hiebei betrug die Oxydation gleichviel, wie in der einfach wässerigen Lösung in runder Zahl 28%. In der Gelatine war — im Gegensatz zur wässerigen Lösung — die Oxydation bei Abwesenheit von Sensibilisatoren äußerst gering, jedenfalls als Folge der Gelatineanwesenheit, sie betrug in einem Versuche 1.4%, im zweiten 2.4%. Bei Gegenwart von Eosin stieg die Oxydation auf 5.2% resp. 6.1%. Somit wirkt auch in der festen Lösung das Eosin als Sensibilisator. Ebenso wie das Eosin hat auch das Auramin die Oxydation in dieser festen Lösung beschleunigt und zwar in noch viel höherem Maße als das Eosin, nämlich bis auf 16.1% resp. 20.7%.

Da somit in wässeriger Lösung das Auramin gar keinen Einfluß auf den Verlauf der Oxydation des arsenigsauren Kaliums zu arsensaurem Kalium ausübt, in „fester Gelatinelösung" dagegen die Beschleunigung eine intensive ist, der Unterschied zwischen diesen zwei Lösungen aber nur darin besteht, daß die Gelatinelösung fluoresziert, so kann nur die Fluoreszenz die Ursache dieses Verhaltens sein; es ist also die Sensibilisierung eine Funktion der Fluoreszenz.

Im folgenden soll noch kurz über die Versuche berichtet werden, die in derselben Richtung mit Invertin an Stelle der arsenigen Säure angestellt wurden, da bei einem Ausfall der Versuche im gleichen Sinne wie bei den Versuchen mit Kalium arsenicosum auch für biologische Reaktionen der Beweis des Zusammenhanges von Fluoreszenz und Sensibilisierung erbracht wäre. Die Versuchsanordnung war hiebei die gleiche wie bei den Versuchen mit Kalium arsenicosum. Es mußte nur darauf geachtet werden, daß die Invertase nicht über 40° C erhitzt wird, denn höhere Hitzegrade verträgt sie nicht und daß in den Lösungen keine Schimmelpilzwucherungen auftreten.

Das erste war bei langsam erstarrender Gelatine leicht dadurch zu erreichen, daß zuerst alle Ingredienzien in die Platte gebracht und gleichmäßig verteilt wurden und erst dann nach gehörigem Abkühlen die Invertinlösung in die Platte hineinpipetiert

und durchgemischt wurde; die auf diese Weise hergestellten Platten waren ebenso klar und gleichmäßig wie die früheren; die Schimmelpilzwucherung verhütete man durch Zusatz von etwas Toluol.

Die Platten wurden in gleicher Weise wie früher 2 Wochen belichtet, dann untersucht. Es wurden vier Serien zu je 3 Platten angefertigt, da aber alle die gleichen Resultate geliefert haben, so will ich mich mit der Anführung von einer Serie begnügen.

Zusammensetzung der Platten.

I — 25 gr Gelatine + $1{,}5\frac{n}{400}$ Auramin + 4 ccm 4% Invertinlösung

II — 25 gr Gelatine + $0{,}5\frac{n}{100}$ Eosin + 4 ccm 4% „

III — 25 gr Gelatine + 4 ccm 4% „

Die Platten wurden nach der Belichtung im Brutschrank bei 35° C aufgelöst, auf 200 ccm mit Wasser aufgefüllt und 10 ccm von der Lösung mit 10 ccm 40% Rohrzuckerlösung versetzt und 24 Stunden im Brutschrank bei 35° C. stehen gelassen.

Dann wurde zuerst angesäuert und 75 ccm Alkohol zugesetzt, mit verdünnter Lauge genauest neutralisiert, wobei die Gelatine quantitativ ausfiel und endlich mit Alkohol auf 100 ccm aufgefüllt. Nach Abfiltrieren der Gelatine wurde die Zuckerkonzentration polarimetrisch bestimmt, wobei sich folgendes ergab:

Platten	Drehung
I	25′
II	27′
III	25′

Die im Dunkeln gehaltene Kontrolle lieferte das gleiche Resultat.

Eine Lösung bestehend aus 10 ccm 40% Zuckerlösung und 10 ccm Wasser und 80 ccm Alkohol ergab eine Drehung von 3° 35′: und die gleiche Lösung mit 4 ccm 4% Invertinlösung versetzt und 24 Stunden im Brutschrank von 35° stehen gelassen eine solche von 25′.

Es wird also Invertase in 70% Gelatine durch fluoreszierende Stoffe nicht geschädigt.

Diese schützende Wirkung der Gelatine gegen die Lichtschädigung von Invertase findet sich auch bei Kohlehydraten (Hexosen). Es wird vermutet, daß es sich hiebei um eine Absorptionserscheinung handelt (Jodlbauer, Biochem. Zeitschr. III

488). Somit war es unmöglich, die Versuche, welche mit arseniger Säure gelangen, auf die Invertase auszudehnen.

Zusammenfassung.

Die gestellte Frage, ob ein Stoff, der in wässeriger Lösung nicht fluoresziert und auch nicht sensibilisiert, dadurch, daß er durch Aenderung seines Lösungsmittels (z. B. in fester Lösung in Gelatine) fluoreszierend wird, zugleich auch eine sensibilisierende Eigenschaft erwirbt, muß positiv beantwortet werden.

Allerdings gelang es bisher nur mit dem Auramin und einer Reaktion, Oxydation der arsenigen Säure, die Richtigkeit dieses Satzes zu beweisen. Die Invertase als Reagens auf das Sensibilisierungsvermögen des Auramins in fester Lösung zu benützen, scheiterte an der Lichtunempfindlichkeit dieses Fermentes in Gelatine, gerade so wie das Jodkalium in einer Gelatinelösung mit 30% Wasser lichtunempfindlich ist.

Zum Schluß wäre darauf hinzuweisen, daß die in früheren Arbeiten aufgestellte These, der photodynamische Prozeß (biologische Sensibilisierung) unterscheide sich von der Sensibilisierung der photographischen Platten dadurch, daß eine Reihe guter photographischer Sensibilisatoren in wässeriger Lösung nicht fluoreszieren und die Lichtempfindlichkeit biologischer Objekte nicht steigern unter Umständen ein Scheinschluß ist, es wäre nämlich sehr wohl denkbar, daß diese in wässeriger Lösung nicht fluoreszierenden, dagegen als gute photographische Sensibilisatoren geltenden Stoffe in der festen Bromsilbergelatine zur Fluoreszenz gebracht werden und hiedurch erst die Eigenschaft von Sensibilisatoren erlangen. Es wären Versuche in dieser Richtung erwünscht.

Herrn Professor Tappeiner spreche ich für die Anregung zu der Arbeit und Uebernahme des Referates und Herrn Professor Jodlbauer für die Unterstützung und Leitung meinen verbindlichsten Dank aus.

Lebenslauf.

Jan Maria Pióro, geboren in Grabowo, Russisch-Polen. Im Jahre 1906 hat er das klassische Gymnasium zu Kronstadt absolviert und im gleichen Jahre die Universität in München bezogen, wo er die ganze Studienzeit geblieben ist.

Jan Pióro.